Ueber Leukocyten-Einschlüsse.

UNIVERSITY LIBRARY
JUN 22 1921

■ ■ ■

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

verfaßt und einer

hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Franz Kolb

■ ■ ■

München 1914.
RUDOLPH MÜLLER & STEINICKE.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität München.

Referent: Herr Prof. May.

Meinen lieben Eltern!

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/ueberleukocytene0000fran

Im Jahre 1912 veröffentlichte Döhle (1) im Centralblatte für Bakteriologie eine Mitteilung über Leukocyteneinschlüsse bei Scharlach. Wie Döhle selbst bemerkt, hielt er dieselben für identisch mit den von May (2) bei einem Falle von Anaemie und von Wechselmann und Hirschfeld (3) bei einem Falle von Leukaemie gesehenen Einschlüssen. Der von Wechselmann und Hirschfeld beobachtete Fall endete tödlich, der von May beschriebene lebt noch und zeigt auch jetzt noch die beschriebenen Einschlüsse in unveränderter Weise, wie ich selbst konstatieren konnte. Beim Scharlach stellen die Einschlüsse nur eine vorübergehende und, wie weitere Untersuchungen bestätigten, eine ziemlich konstante Erscheinung dar; sie besitzen demnach bis zu einem gewissen Grade auch diagnostischen Wert. Sie sind aber, wie sich auf Grund vieler weiterer Nachuntersuchungen ergab, nicht für denselben specifisch, denn sie finden sich, wenn auch nicht mit derselben Konstanz, zuweilen auch bei anderen, namentlich Infektionskrankheiten, sogar ab und zu, wenigstens in vereinzelten Leukocyten, beim völlig Gesunden.

Was zunächst das Aussehen der Einschlüsse betrifft, so ist zu bemerken, dass es bisher anscheinend nicht gelang, sie im ungefärbten Präparate zu sehen; zur Darstellung eignen sich alle möglichen Farbstoffe. Hämatoxylin oder Methylenblau färben sie in der Farbe des Kerns, bei Anwendung von Romanowsky-Gemischen wird eine differente Färbung gegenüber dem Kern erzielt: die Einschlüsse färben sich reinblau, nehmen also keinen Azurton an, während die Kerne sich azurieren und rotviolett erscheinen. Ebenso gelingt eine sehr kontrastvolle Differenzierung mit Pappenheims Methylgrün-Pyronin, wobei sich die Kerne blaugrün, die Einschlüsse dagegen hell leuchtend rot — im Tone des Lymphocytenprotoplasmas — färben.

Unter Anwendung dieser Färbungen sieht man im Protoplasma der polynucleären Leukocyten völlig freiliegende, runde, längliche oder halbmondförmige, homogene Einschlüsse (Abbildungen bei May, Wechselmann und Hirschfeld), die keine Verbindung mit dem Kern erkennen lassen. Oft liegen mehrere, bis zu sechs in einer Zelle, häufig mit der konvexen Seite randständig.

Beim Scharlach fand Döhle solche Einschlüsse in der ersten Krankheitswoche vom 2. bis 5. Tag in 30 Fällen, außerdem in 3 nichtscarlatinösen Kontrollfällen.

Bestätigt wurden die Döhle'schen Befunde zunächst durch Kretschmer (4), der die Einschlüsse in 30 Scharlachfällen ausnahmslos nachwies; unter 70 nichtscarlatinösen Kontrollen

fanden sich ähnliche Gebilde nur in 4 Fällen, (septische Erkrankungen). Besonders wird der diagnostische Wert der anscheinend nahezu spezifischen Einschlüsse von ihm betont, dieser wurde aber bald in Frage gestellt, als auch bei Diphtherie in einem ziemlichen Prozentsatz von einigen Untersuchern Einschlüsse gesehen wurden. In einer späteren größeren Arbeit bemüht sich Kretschmer (5) dann diesen Einwand zu widerlegen. Er fand zwar bei der Untersuchung von 27 Diphtherieerkrankungen in 6 Fällen Einschlüsse, diese sind aber seiner Meinung nach kleiner, rund, nicht polymorph und viel seltener. Auch bei Masern, Tuberkulose, Empyem, einigen Fällen von Pneumonie und Sepsis fand er selbst ganz vereinzelt Einschlüsse. Im ganzen fanden sich unter den 170 Kontrollen, 30 positive, während alle untersuchten 110 Scharlachfälle mit Ausnahme von vier, die erst nach Ablauf der ersten Woche untersucht wurden, positiven Befund zeigten. Trotzdem könne dieser Befund den diagnostischen Wert der Einschlüsse nicht herabsetzen, denn zahlreiche Krankheiten mit Einschlüssen kämen differentialdiagnostisch gegen Scharlach nicht in Frage, ihr Fehlen erlaube Scharlach mit Sicherheit anzuschliessen.

Jskender Ahmed (6) sah die Einschlüsse zwar regelmäßig bei Scharlach, aber auch bei ziemlich vielen anderen Erkrankungen wie Erysipel, Rubeolen, hochfiebernden Typhusfällen, bei Tuberkulose mit und ohne Fieber. Deshalb spricht auch er den Einschlüssen Spezifität für Scharlach ab, vermutet vielmehr einen Zusammenhang mit dem Fieber an sich.

Harriehausen (7) der in 24 von 86 Scharlachfällen die Einschlüsse vermißte, glaubt nicht an einen diagnostischen Wert, da sie auch bei anderen Erkrankungen, besonders Tuberkulose vorkämen.

Schwenke (8) hat 81 Fälle, darunter 11 Scharlachfälle untersucht und die Einschlüsse bei letzterer Krankheit konstant in der ersten Woche gefunden; in frischen und hoch fiebernden Fällen fanden sich 50—80 % Einschlussleukocyten, in leichteren und älteren Fällen weniger. Die Zahl der Einschlüsse scheint so mit der Infektion parallel zu gehen. Außerdem fanden sich die Einschlüsse auch bei einer ganzen Reihe anderer Erkrankungen, konstant aber nur in allen untersuchten 14 Fällen von Kinderpneumonie, auch hier meistens in mehr als 50 % aller Leukocyten. Eine pathognomonische Bedeutung könne ihnen somit nicht zukommen, und ein positiver Befund sei nur mit Vorsicht zu verwerten.

Fränken (9) hat in 9 von 12 Scharlachfällen Einschlüsse gesehen, Bernhardt (10) sah sie in 10 Fällen von Scharlach, aber auch bei Masern, Tuberkulose, Polyarthritis.

Preisich (11) fand die Einschlüsse häufig bei Typhus exanthematicus, Typhus abdominalis, Masern und Scharlach und spricht ihnen jegliche diagnostische und spezifische Bedeutung ab.

Nicoll und Williams (12) haben 51 Scharlachfälle mit 25 Kontrollen untersucht und bestätigen in allen wesentlichen Punkten die Mitteilungen Döhles und Kretschmers, die von Nicoll (13) allein an einem größeren Material von 115 Scharlachfällen nochmals nachgeprüft wurden, 4 letzterer Fälle boten auch vor Ablauf des 7. Tages negativen Befund.

Kolmer (14) hat 216 Scharlachfälle, 50 Fälle von Diphtherie und 30 von Serumexanthem untersucht. Er fand auch bei Diphtherie ziemlich häufig Einschlüsse, ebenso bei anderen nichtscarlatinösen Erkrankungen, dagegen nicht in den Fällen von Serumexanthem.

Belak (15), dessen Untersuchungen sich auf 19 Scharlachfälle erstreckten, macht darauf aufmerksam, daß die gefärbten Einschlüsse nicht stets die gleiche Färbeintensität aufweisen und unterscheidet deshalb scharfe Einschlüsse, blasse Einschlüsse und unbestimmte Trübungen. Um vielleicht eine Frühdiagnose des Scharlachs stellen zu können, untersuchte er auch 14 Geschwister von Scharlachkranken; keines von diesen erkrankte, trotzdem aber konnte er Einschlüsse in 4 Fällen nachweisen. Außerdem fand er sie bei zahlreichen anderen Krankheiten, besonders Tuberkulose, einmal auch bei sämtlichen Kindern einer Familie, ohne daß eines erkrankte. Er folgert daraus, dass nur ihr Fehlen charakteristisch und diagnostisch wertvoll sei, da man Scharlach auf diese Weise ausschließen könne.

Schippers und de Lange (16) fanden, daß die Zahl der einschlußhaltigen Leukocyten dem Fieber nicht parallel geht und sahen ziemlich viele Einschlüsse auch bei einer schweren Angina, einem Streptokokkenabscess und einem Streptokokkenkarbunkel.

Meyer (17) sah die Einschlüsse außer bei Scharlach regelmäßig bei Angina, Pneumonie, nicht dagegen bei Masern, Rubeolen, Erythema exsudativum multiforme.

Auch Bongartz (18) bestätigt die schon bekannten Befunde an Hand eines Materials von 11 Scharlachfällen; er hat dabei beobachtet, daß längliche Einschlüsse häufiger am Rand als in der Nähe des Kerns zu finden sind. Er konnte aber Scharlacheinschlüsse nicht von diphtherischen unterscheiden, obwohl er, wie Kretschmer, mit Manson färbte. Er glaubt, die Einschlüsse an einem wahllos zusammengestellten, zum Teil poliklinischen Material von Kindern, fast in jedem Fall nachgewiesen zu haben, ebenso ungefähr bei 80% aller Gesunden. Daraus zieht er den Schluß, daß bei Kindern normal im Protoplasma Einschlüsse vorkommen, die sich während fieberhafter Attacken scheinbar vermehren und jedenfalls nicht für Scharlach pathognomonisch sind. Auch bei Erwachsenen fand sich wie aus einer späteren

Mitteilung von Bongartz (19) hervorgeht, in 87 %—88 % aller Fälle ein positiver Befund, indessen waren oft nur verschwindend wenig Leukocyten mit Einschlüssen vorhanden.

Durch diese auffälligen Befunde wurde die Frage in den Vordergrund gerückt, ob es sich überhaupt um etwas Pathologisches handle, und deshalb untersuchte Bongartz einen Säugling wenige Tage nach der Geburt. Er konnte keine Einschlüsse nachweisen bis das Kind einen Katarrh mit Fieber und schlechten Stühlen bekam und gleichzeitig die Erscheinungen einer exsudativen Diathese auftraten. Am dritten Fiebertag waren dann plötzlich reichlich Einschlüsse nachzuweisen. Ich selbst hatte Gelegenheit während einer kleinen Scharlachepidemie 10 Fälle zu untersuchen; bei allen waren die Einschlüsse leicht nachzuweisen, meine Beobachtungen über die Dauer ihres Vorkommens ergeben, daß die Einschlüsse während der ersten Krankheitswoche konstant nachweisbar sind; später nimmt die Zahl der einschlußhaltigen Leukocyten nur sehr allmählich ab, exakte Angaben über den Zeitpunkt ihres vollständigen Verschwindens kann man deshalb machen.

Aus all den angeführten Mitteilungen geht hervor, daß der Scharlach zweifellos am häufigsten von allen Krankheitszuständen Einschlußleukocyten aufweist. Besonders interessant ist jene Untersuchung von Bongartz, aus welcher hervorzugehen scheint, daß die Einschlüsse erst unter Einwirkung einer Krankheit auftreten, indem er zeigen konnte, daß sie bei einem gesunden Säuglinge erst auftraten, als derselbe an einer fieberhaften Affektion erkrankte.

Während somit über das Vorkommen der Leukocyteneinschlüsse vorläufig Genügendes bekannt sein dürfte, ist es um die Deutung der beschriebenen Gebilde weniger gut bestellt. Ein Streit erhebt sich zunächst schon um ihre Abstammung, nämlich um die Frage, ob sie Kernbestandteile darstellen oder nichts mit dem Kerne zu tun haben.

Schon Döhle machte auf die Möglichkeit aufmerksam, dass Kernläppchen als Einschlüsse imponieren könnten.

Diese Möglichkeit ist aber nur dann gegeben, wenn der Einschluß in der Nähe des Kerns liegt, was selten ist; zudem erlaubt die Methylgrün-Pyroninmethode, bei der die Kerne blaugrün, die Einschlüsse dagegen rot gefärbt werden, auch dann noch eine Entscheidung, wenn die anderen Färbungen, bei denen der Färbeunterschied zwischen Kern und Einschluß weniger auffallend ist, noch Zweifel bestehen lassen.

Jskender Ahmed warf als erster die Frage auf, ob die Einschlüsse Kernfragmente oder umgewandelte Protoplasmateile darstellen.

Bernhardt hält sie für Abschnürungs- oder Zerfallsprodukte des Kerns, die sich färberisch verändert haben.

Nach Schippers und de Lange stellen die Einschlüsse „Reaktionsprodukte des Protoplasmas" dar und als solche faßt sie auch Schwenke auf. Nach Kolmer bestehen sie wahrscheinlich aus Plastin, das durch Degeneration des Cytoplasmas entstanden sei.

Man sollte erwarten bei fortlaufender, möglichst frühzeitig einsetzender Beobachtung von Scharlachfällen schon durch die rein morphologische Methode etwas über Bildung und Wachstum der Einschlüsse zu erfahren. Allein das ist nicht der Fall. In dem Augenblicke, wo man die Einschlüsse nachweisen kann, zeigen sie bereits das fertige Bild. Es dürfte schon hieraus der Schluß gerechtfertigt sein, daß die Einschlüsse nicht erst in den Leukocyten des strömenden Blutes entstehen, sondern bereits in den Bildungsstätten der Blutkörperchen, im Knochenmarke usw.

Was die Frage betrifft, ob sie aus Kernsubstanz hervorgehen, oder aus dem umgebenden Protoplasma, so spricht das färberische Verhalten nicht zu Gunsten ersterer Auffassung, aber auch nicht unbedingt dagegen. Wie gesagt, hat es den Anschein, daß man im circulierenden Blute nur bereits fertigen Einschlüssen begegnet und es ist aus diesem Grunde auch nicht erlaubt, die Lage der Einschlüsse — ob näher dem Kerne oder weiter von ihm entfernt — zur Lösung dieser Frage heranzuziehen. Nichtsdestoweniger habe ich anfänglich den Versuch gemacht, Zählungen zu diesem Zwecke vorzunehmen.

Bei dieser Auszählung habe ich mich nicht davon überzeugen können, daß der Prozentsatz der Randeinschlüsse am Ende der ersten Woche größer als am Anfang sei. Die Zahlen differieren nur innerhalb der Fehlergrenzen, sind bei dem gleichen Individum ziemlich konstant und schwanken bei verschiedenen Individuen von 33 % bis 50 %.

Nicht selten sieht man auch eine verwaschen gefärbte Zone längs des Zellrandes, die man vielleicht so erklären kann, daß die Einschlüsse sich auflösen und aus der Zelle ins Blutplasma diffundieren.

Auch Belak erklärt ihr allmähliches Verschwinden aus einer allmählichen Auflösung im Protoplasma.

(Häufig findet man am Kern kleine Auswüchse die ganz den Eindruck von eben sich abschnürenden Einschlüssen machen können und manchmal nur durch eine fadenförmige dünne Verbindungsbrücke mit dem Kern zusammenhängen. Oft findet man dann dicht daneben, ganz nahe dem Kern einen sicher nicht mit dem Kern in Zusammenhang stehenden Einschluß. Aber solche Kern-Bilder sind auch in zahlreichen Fällen zu finden, wo keine Einschlußleukocyten vorhanden sind.)

Die angefügten Untersuchungen zeigen, daß die Einschlüsse wahrscheinlich stets nur im Anschluß an Infektionen auftreten. In den meisten Fällen verschwinden sie mit dem Aufhören der Krankheit wieder völlig durch Auflösung. In einzelnen Fällen finden sich auch in scheinbar krankheitsfreier Zeit ganz vereinzelt Leukocyten, die mehr oder weniger deutlich Einschlüsse aufweisen. (Residuen vorausgegangener Infektion — Bongartz.)

Während die Mehrzahl der angeführten Autoren die Einschlüsse als endogene Produkte der Leukocyten selbst ansprechen — sei es nun, daß sie dieselben vom Kern oder vom Protoplasma ableiten — fehlt es auch nicht an solchen, die sie als exogene, also von der Zelle aufgenommene Körperchen erachten, ja auch nicht an solchen, welche sie für Parasiten halten. So geben schon Wechselmann und Hirschfeld der Vorstellung Raum, daß es sich um phagocytierte rote Blutkörperchen, bezw. Trümmer von Erythrocyten handeln könnte, Preisich erscheint die Möglichkeit, daß es sich bei den Einschlüssen um Fremdkörper handle, zwar denkbar, aber doch fraglich.

Das Aussehen der Einschlüsse spricht, soweit ich mir selbst ein Urteil bilden konnte, entschieden gegen eine extracellulare Entstehung durch Eindringen von belebtem oder unbelebtem Material, zudem erscheint eine Ableitung aus Phagocytose auch deshalb recht unwahrscheinlich, weil den Einschlüssen gleichende extracellulare Körperchen nicht sicher nachgewiesen sind.

Die Vermutung, daß es sich um einen protozoischen spirochätenähnlichen Scharlacherreger handeln könne, sprach Döhle aus. Schon May hatte gegen die parasitäre Natur der Einschlüsse Beweisgründe vorgebracht. Ebenso bestreitet Kolmer, speziell wegen des Fehlens einer Chromatinsubstanz die protozoische Natur der Gebilde, desgleichen Schwenke.

Dass es sich nicht um den „Scharlach-Erreger" handeln könne, steht jetzt, nachdem man die Gebilde außer bei Scharlach auch bei zahlreichen anderen Infektionskrankheiten gefunden hat, zweifellos fest.

Da man gesehen hatte, daß hauptsächlich — oder vielleicht ausschließlich Infektionskrankheiten, abgesehen vom Scharlach besonders die sogenannten rheumatischen — Einschlußleukocyten aufweisen, so lag es nahe, die Hervorrufung derselben auch experimentell in Angriff zu nehmen.

Döhle selbst machte bereits den Versuch, durch Verimpfung von Scharlachblut auf weiße Mäuse, Kaninchen und Schweine künstlich Einschlüsse zu erzeugen. Derselbe blieb erfolglos.

Auch Kretschmer ging darauf aus, experimentell bei Tieren die Einschlüsse zu erzeugen, wobei er als Versuchstiere Hunde und Katzen benutzte, da die Leukocyten von Meer-

schweinchen und Kaninchen durch zu starke Granulierung die Einschlüsse verdeckten. Bei diesen Tieren erzeugte er durch Bouillonkulturen künstlich Eiterungen und Empyeme, injicierte abgetötete Streptokokken auch Terpentinöl, um einen sterilen Abscess zu erzeugen, ferner injicierte er Paratyphustoxin, Tuberkulin, Kobragift, impfte Hunde und Affen Scharlachblut ein, ohne in einem dieser Fälle Einschlüsse nachweisen zu können. Nur bei 6 Hunden, denen Diphtherietoxin in so hohen Dosen injiciert wurde, daß meist der Tod erfolgte, sah er in 4 Fällen kleine, kokkenähnliche Einschlüsse, ähnlich den Leukocyteneinschlüssen beim Menschen. Bei gleichzeitiger Injektion von Toxin und Antitoxin blieben die Tiere am Leben, zeigten aber auch keine Einschlüsse.

Das in der Literatur häufig erwähnte Vorkommen von Einschlüssen bei rheumatischen Affektionen veranlaßte Schippers und de Lange, einem Hund eine Reinkultur von Streptokokken, aus einem Scharlachfall gezüchtet, subkutan zu in injicieren; darauf stieg die Zahl der Einschlußleukocyten, die vorher 1% betragen hatte auf ungefähr 5% und diese Einschlüsse konnten die Autoren von menschlichen nicht unterscheiden. Kolmer dagegen konnte beim Kaninchen durch Injektion von Streptokokken keine Einschlüsse erzeugen.

Positive Befunde wurden also nur erhalten beim Hund unter Anwendung von Diphtherie-Toxin und Streptokokken, beim Kaninchen blieb dagegen ein solcher bei Streptokokkeninfektion aus, wenig genug, um zu weiteren experimentellen Untersuchungen aufzufordern.

A. Versuche mit nicht scarlatinösem Material.

Bei meinen eigenen diesbezüglichen experimentellen Arbeiten bemühte ich mich in einer ersten Versuchsreihe, durch nichtscarlatinöses Material Einschlüsse zu erzeugen.

1a. Das Vorkommen bei vielen Infektionskrankheiten legte den Gedanken nahe, daß die Einschlüsse vielleicht mit Immunität oder Anaphylaxie-Reaktionen in einem Zusammenhang stehen könnten und so injizierte ich einem Kaninchen zunächst 0,5 cbcm Diphtherieserum. Die Blutausstriche wurden täglich, 14 Tage lang, untersucht, um die vielleicht nur für kurze Zeit auftretenden Einschlüsse nicht zu übersehen. Erschwert wurde die Untersuchung im Anfang durch ein starkes Ueberwiegen der Lymphocyten über die polynucleären Leukocyten, indessen änderte sich dieses Verhalten während der Beobachtungsdauer bis zur Norm von ca. 60% Lymphocyten. Die Färbemethode war die in der medizinischen Poliklinik damals übliche: Vorfärben mit May-Grünwald. Abspülen und Nachfärben mit Methylen-Ciba unter Kontrolle des Mikroskops bis zum Eintritte des Azurtons. Dabei konnte ich trotz täglicher Untersuchung weder vor noch nach

der Injektion jemals etwas einem Einschluß Aehnliches sehen. Sonst zeigte das Blutbild nur geringe Aenderungen, die Erythrocytenzahl schwankte um 5 000 000, der Hämoglobingehalt blieb konstant, die Leukocytenzahl stieg von 8000 auf 12 500. Mit der Zunahme der Leukocyten fanden sich auch Mastzellen und Zellen mit pseudoeosinophiler Granulation häufiger. Am 15. Tag erhielt das Tier 0,2 cbcm desselben Serums wieder subkutan injiziert, um einen anaphylaktischen Schock zu erzeugen. Dieser blieb aber aus: weder Dyspnoe, noch Temperatursturz, noch Krämpfe traten auf, und auch das Blutbild zeigte keinen abnormen Befund. Eine Injektion von 0,8 cbcm Serum am folgenden Tag hatte dasselbe negative Resultat.

Manchmal sah ich zwar in der Nähe des Kerns Inseln, die sich nicht genau im Farbton des Kerns färbten, aber ich glaube, solch vereinzelte und unsichere Befunde nicht als Einschlüsse ansprechen zu dürfen. Man muß unbedingt ein konstantes und relativ häufiges Vorkommen, einigermaßen konstante deutliche Form, womöglich auch in die Augen fallende Farbdifferenzen verlangen, sonst ist man zu leicht Verwechslungen mit Kernteilen, deren feines Verbindungsstück zufällig unsichtbar ist, ausgesetzt. Einschlüsse, die diesen Bedingungen entsprechen, waren trotz allen Suchens nicht aufzufinden.

1 b. In einem weiteren Versuche injizierte ich einem Hund 25 cbcm Menschenserum, nach 18 Tagen dann noch 20 cbcm, untersuchte in gleicher Weise, ohne damit Einschlüsse oder einen anaphylaktischen Schock erzeugen zu können.

2. Nachdem diese Versuche fehlgeschlagen waren, versuchte ich es mit einer „Chlamydozoenkrankheit", der Vakzine-Variola. Einem Kaninchen wurde die Bauchhaut rasiert, gewaschen und es wurden dann kreuz und quer zahlreiche nicht blutende Scarificationen angelegt, die mit dem gesamten Inhalt einer Impfkapillare kräftig eingerieben wurden. Bei der täglichen Blutuntersuchung wurde mit May-Grünwald, Ciba und Methylgrün-Pyronin gefärbt und es ergab sich dabei folgendes Bild:

1. Tag. Keine Einschlüsse. Infektion.
2. Tag. Keine Aenderung des Blutbildes. Temperatur 40,3.
3. Tag. Häufiger basophil granulierte Zellen. 40,5.
4. Tag. Vermehrung der einkernigen Elemente. 41,0. Reizformen von Leukocyten; vereinzelte Normalblasten.
5. Tag. Zahlreiche Normoblasten. (1 auf 10 weiße). Einzelne Leukocyten mit tiefdunkelblauer Granulierung 41,3.
6. Tag. Normoblasten noch ebenso häufig. Einige punktierte Erythrocyten. Myelocyten. 40, 2.
7. Tag. Zunahme der polynucleären Leukocyten. 39,6.

8. Tag. Weitere Annäherung zur Norm. 39,5.
9. Tag. Mastzellen wieder häufiger. 39,3.
10. Tag. Wie gestern. 39,3.
11. Tag. Die Lymphocyten gegen die Zeit vor der Infektion immer noch stark vermehrt. Am Bauch stoßen sich die rissigen Borken ab, darunter normale, glatte Haut.

Auch mit diesem Versuch gelang es also nicht, Einschlüsse zu erzeugen, trotzdem habe ich den Verlauf etwas ausführlicher mitgeteilt wegen des interessanten Nebenbefundes, welcher die Diagnose einer Vakzine-Variolainfektion schon und hauptsächlich durch das Blutbild ermöglichte. Die äußeren Zeichen sprachen nicht für Variola, denn es war keine Störung im Wohlbefinden des Tieres zu erkennen. Die Bauchhaut belegte sich zwar mit dicken Borken, die rissig wurden und leicht bluteten, aber eine typische Pustelentwicklung kam nicht zustande. Da Kaninchen für Vakzine-Variola sicher empfänglich sind, da auch keine Desinfizientia mit der Bauchhaut in Berührung kamen, und das Tier noch nicht für Versuchszwecke benutzt war, fehlt mir jede Erklärung hierfür. Daß das Tier trotzdem krank war, ergibt sich aus der Temperatursteigerung gegen die Norm von 39,0 bis 41,0, die man aber auch auf eine mögliche Mischinfektion beziehen könnte. Dagegen ist aus dem Blutbild mit ziemlicher Sicherheit zu folgern, daß hier doch eine Vakzine-Variolainfektion stattgefunden hat, denn eine langdauernde Lymphocytose, bis 50% beim Menschen, mit gleichzeitigem Auftreten von Normoblasten ist nach Kämmerer (20) charakteristich für schwere Variolainfektion. Auch die auffällige Vermehrung der beim Kaninchen ohnehin zahlreichen „Mastzellen“ und ihre gröbere, dunkler färbbare Granulierung ist schon von Prösch er (21) beobachtet und als Charakteristikum einer Infektion mit Pockenvirus erachtet worden.

B. Versuche mit „Scharlachvirus“.

Man wird einwenden, daß ich bei dem Versuch, die Einschlüsse zu erzeugen, den einfachsten Weg, eines der gebräuchlichen Laboratoriumstiere mit Scharlach zu infizieren, vermieden habe. Soweit mir die Literatur zugänglich war, wird das Vorkommen von Scharlach bei Tieren, außer bei menschenähnlichen Affen, in Abrede gestellt. Die seltenen Fälle, die für Scharlach gehalten wurden, stellten sich meist als Rotlauf heraus und nur ein Fall von Rapin (22), der Scharlach bei zwei jungen Kätzchen beobachtet haben will, erweckt den Eindruck, daß hier vielleicht wirklich eine Scarlatinainfektion vorgelegen hat. Es war in diesem Fall Infektionsgelegenheit vorhanden, anfangs bestand Fieber, später verloren die Tiere die Haare und die Epi-

dermis schilferte sich in mehligen Massen ohne deutliche Exfoliation ab. Diese Mitteilung blieb aber bisher ganz vereinzelt. Affen standen mir nicht zur Verfügung.

1. Da ich damals noch mit der Möglichkeit rechnete, daß die Einschlüsse unter dem Einflusse des Scharlachvirus in fertigen Leukocyten entstehen könnten, hoffte ich vielleicht mit dem Reagenzglasversuche zum Ziel zu kommen. Aber auch hiermit hatte ich kein Glück, wohl schon aus dem Grunde, weil mir dabei nur ein schon 3 Wochen alter Scharlachfall zur Verfügung stand und ich es dahin gestellt sein lassen mußte, ob der Speichel infektionstüchtiges Scharlachvirus enthielte.

Das erforderliche Blut wurde durch aseptische Venenpunktion entnommen, die Gerinnung durch Defibrinieren oder Verdünnen mit 1% Natriumoxalatlösung verhindert und dann totes Virus mit lebenden Leukocyten, lebendes Virus mit toten Leukocyten und lebendes Virus mit lebenden Leukocyten zusammengebracht. Nach 24 stündigem Aufenthalt im Brutschrank waren die Leukocyten fast vollständig aufgelöst und in den meisten Röhrchen sah man massenhaft die mit dem Speichel eingebrachten Bakterien wuchern. Deshalb schickte ich in einem zweiten Versuche den Speichel, der dazu stark mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt werden mußte, erst durch ein Berckefeldtfilter, da diese Scharlachvirus passieren lassen. (Bernhardt lc.) Dadurch gelang es zwar, die Mischinfektion zu verhindern, aber trotzdem waren nach 24 Stunden die Leukocyten in einem nur wenig besseren Zustand. Die Kerne der polynucleären Leukocyten waren gequollen und nur blassblau färbbar, das Protoplasma stark vakuolisiert, Kern und Zellgrenzen verwaschen, während die Lymphocyten noch gut erhalten waren. Da dieses Bild bei allen Röhrchen das gleiche war, können nur hitzebeständige, im Speichel enthaltene Substanzen oder der um ein geringes verschiedene osmotische Druck des Speichels in Frage kommen. Zu dem ist die physiologische Kochsalzlösung auch bei sorgfältigster Herstellung nicht so indifferent, daß nicht schon nach kurzem Verweilen darin die Leukocyten leichte Quellungserscheinungen usw. aufwiesen. Soweit die Leukocyten noch erhalten waren, habe ich Einschlüsse in ihnen nicht sehen können.

Da ich mir von weiteren Versuchen in dieser Richtung kein besseres Resultat versprechen konnte, versuchte ich die Frage 2. von der physiologischen Seite anzugreifen, nämlich Einschlußleukocyten auf ihre phagocytäre Leistungsfähigkeit in Parallele mit normalen Leukocyten zu prüfen. Durch das Entgegenkommen von Herrn Prof. May war es mir möglich, die Versuche mit dem von ihm veröffentlichten Falle anzustellen, der in sämtlichen Leukocyten Einschlüsse zeigt, ohne im landläufigen Sinne des Wortes krank zu sein. Die subjektiven

Beschwerden der Patientin K. bestanden auch zur Zeit derselben in Müdigkeit, dauerndem leichtem Kopfschmerz und in einer leichten Anschwellung der Beine, die den Eindruck einer Lymphstauung machte. Die Blutuntersuchung ergab 64% Hb. nach Sahli-Gowers, zirka 5 000 000 Erythrocyten, 5 000 Leukocyten. Aus der Anamnese ist erwähnenswert, daß die Mutter als Kind einen schweren Scharlach durchgemacht hat. Die Einschlüsse dieses Falles gleichen auffallend den typischen Scharlacheinschlüssen, vielleicht sind sie etwas größer (?); immerhin glaube ich bis auf weiteres die beiden als identisch ansehen zu dürfen.

Die Einschlußleukocyten dieser Patientin sollten mit normalen in Bezug auf ihre größere oder geringere Befähigung zur Phagocytose von Mikroorganismen verglichen werden. Dabei war ich in der Lage, zum Teil die Technik, die Wright (23) für die Bestimmung des opsonischen Index ausgearbeitet hat, benutzen zu können. Die Methode verlangt ein sehr exaktes Arbeiten und die Vorschriften Wrights erstrecken sich deshalb bis auf die kleinsten Einzelheiten, aber da auch mein Ziel ein anderes war, konnte ich mir die Technik etwas erleichtern. Wright will die opsonierende Kraft, die verschiedene Sera auf die gleichen Leukocyten ausüben, vergleichen und muß deshalb alle Sorgfalt in einer umständlichen Waschprocedur darauf verwenden, die Leukocyten, die in ein fremdes Serum kommen sollen, von dem anhaftenden eigenen zu befreien. Da ich die Phagocytose in dem eigenen Serum vor sich gehen lassen konnte, war das Waschen entbehrlich und ich brauchte bloß, der Wrightschen Vorschrift entsprechend die Gerinnung durch Eintropfen des Blutes in eine 1% Natriumcitratlösung zu verhindern. Im Interesse der Färbbarkeit wurde die Citratlösung nach dem Centrifugieren durch 0,85% Kochsalzlösung ersetzt. Das Blut wird von Wright durch Einstechen einer Glaskapillare in die Fingerbeere und Aussaugen des Blutes gewonnen; ich fand die Blutung aus einem Lanzettenstich ins Ohrläppchen genügend.

Die Bakterienemulsion muß, um unbrauchbar zu sein, nach Wright vor allem zwei Forderungen entsprechen: die Konzentration muß so gewählt sein, daß auf jeden Leukocyten eine entsprechende, nicht zu große oder zu geringe Anzahl von Bakterien entfällt, außerdem soll die Emulsion homogen sein, jedes Bakterium soll im Probeausstrich allein für sich liegen. Dazu ist ein längeres kräftiges Verreiben und häufiges Abpipettieren der zu Boden gesunkenen groben Brocken notwendig. Für die Aufschwemmung sollen lebende Kulturen und physiologische Kochsalzlösung verwandt werden, nur Tuberkelbazillen sollen abgetötet und in 1,5% Kochsalzlösung aufgeschwemmt werden, da lebende Tuberkelbazillen nicht phagocyziert werden und in physiologischer Kochsalzlösung Spontanphagocytose stattfinden soll. Da ich in der Spontanphagocytose für meinen Fall keinen

Nachteil sehen konnte, eine so stark hypertonische Lösung aber die polynuclären Leukocyten stark angegriffen hätte, habe ich auch hier 0,85% Kochsalzlösung verwendet. Eine weitere Vorbedingung für das Gelingen des Versuchs ist, daß die Verunreinigung mit Nährboden möglichst beschränkt wird und es empfiehlt sich das Präparat darauf zu prüfen, da sonst die Deutlichkeit der Färbung stark beeinträchtigt wird.

Von diesen drei Komponenten: Leukocytenaufschwemmung, Serum, Bakterienemulsion (die beiden ersten von demselben Patienten) wurden stets gleiche Mengen gemischt, ½ Stunde im Brutschrank gehalten und vom Sediment Ausstriche gemacht. Das Präparat wurde dann in gesättigter Sublimatlösung oder Methylalkohol fixiert, mit Karbolfuchsin in der üblichen Weise auf Tuberkelbazillen gefärbt und mit May-Grünwald nachbehandelt. Dann wurde eine Anzahl von Leukocyten gezählt und die Zahl der von ihnen aufgenommenen Bakterien ermittelt. Als gesunde Vergleichsperson diente ein junger Kollege, dessen Leukocyten in ihrer phagocytären Befähigung ungefähr den Durchschnitt aus den Untersuchungen an drei anderen Gesunden entsprachen:

Es ergab sich für tote Tuberkelbazillen bei gleichzeitiger Untersuchung

für Einschlußleukocyten eine phagocytische Zahl von 10,7,

für normale Leukocyten eine phagocytische Zahl von 17,3.

Es war also bei den Einschlußleukocyten eine Minderwertigkeit gegenüber normalen in Bezug auf ihre phagocytische Befähigung wenigstens gegenüber abgetöteten Tuberkelbazillen zu konstatieren. (Dabei bin ich mir allerdings bewußt, daß die Versuchs-Anordnung nicht ohne weiteres den Schluß zuläßt, daß dieser Unterschied durch die den Leukocyten selbst anhaftende Eigentümlichkeit zustande kam. Denn wie Wright nachgewiesen hat, kommt es bei der Phagocytose der Leukocyten nicht so sehr auf letztere selbst, als auf das sie beherbergende Medium, das Serum an. Immerhin aber dürfte gerade die Art der gewählten Infektionserreger — Tuberkelbazillen — bei dem Fehlen jeglicher Anhaltspunkte für Tuberkulose sowohl bei den Vergleichspersonen als bei der Patientin K. es wahrscheinlich machen, daß im vorliegenden Versuch die geringere phagocytäre Kraft nicht durch eine Verschiedenheit der Sera, sondern der Leukocyten selbst bedingt war).

Ich habe dann nochmals den Versuch gemacht, experimetell im Reagensglas durch Scharlachmaterial Einschlüsse zu erzeugen. Zu diesem Zweck entnahm ich einem Scharlachpatienten durch aseptische Venenpunktion eine größere Menge Blut und brachte in das abgeschiedene Serum einige Tropfen Blut eines Gesunden, das, wie ich mich überzeugt hatte, keine Einschlüsse aufwies,

(6 Tropfen Blut auf zirka 50 cbcm. Serum.) Die starke Verdünnung verhinderte eine Gerinnung und auch eine Infektion wurde diesmal vermieden, sodaß die Leukocyten relativ gut erhalten blieben. In Abständen von 6 Stunden wurde dann untersucht. Dabei fand ich in dem nach 12 Stunden entnommenen Präparat und auch in den späteren Stadien einen oder zwei typische Einschlüsse, allerdings nur bei Anwendung von Mansonfärbung. Weit öfter sah man phagocytierte Verunreinigungen und Kerndegenerationsformen, die manchmal eine große Aehnlichkeit mit Einschlüssen aufwiesen. Solche Bilder, die dafür sprachen, daß es sich um wirklich echte Einschlüsse handelte, waren nur in in so verschwindend geringer Zahl vorhanden, daß mir die Behauptung zu gewagt erscheint, sie seien unter dem Einfluß der Serumwirkung entstanden, umso mehr, als die Mansonfärbung keine Differenzierung zwischen Kernbestandteilen und Einschlüssen erlaubt. Die Frage, ob durch diese Versuchsanordnung nicht doch Einschlüsse erzeugt werden können, muß ich daher vorläufig offen lassen, halte es aber nicht für wahrscheinlich.

Nachdem die Versuche, die auf eine künstliche Darstellung der Einschlüsse abzielten, fehlgeschlagen, gewinnt die Anschauung an Wahrscheinlichkeit, daß es sich bei der Entstehung der Einschlüsse eben nicht um eine einfache Wechselwirkung zwischen Leukocyten und einem Einschlusse erzeugenden Agens handelt, das im Serum kreist. Es ist denkbar, daß die im Serum vorhandene freie Giftmenge nicht dazu ausreichte, Einschlüsse zu erzeugen, auch das Fehlen einer Inkubationszeit ist vielleicht von Einfluß. Wahrscheinlicher ist aber, daß die Einschlüsse schon im Knochenmark in den werdenden Leukocyten entstehen, nicht erst im strömenden Blute. Welche von diesen beiden Anschauungen die richtige ist, könnte sich vielleicht durch die Untersuchung des Knochenmarks von frischen Fällen ergeben.

Zum Schlusse erlaube ich mir noch, Herrn Prof. May für die gütige Ueberlassung des Materials und die freundliche Unterstützung bei der Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Döhle, Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 65. 1912.
2. May, Archiv für klinische Medizin, Bd. 96. 1909.
3. Wechselmann-Hirschfeld, Zeitschrift für klin. Medizin, Bd. 66. 1908.
4. Kretschmer, Berliner klin. Wochenschr. 1912, Nr. 11.
5. Kretschmer, Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 46.
6. Jskender-Ahmed. Berliner klin. Wochenschr. 1912, Nr. 26.
7. Harriehausen, Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 38, Vereinsberichte.
8. Schwenke, Münchner med. Wochenschr. 1913, Nr. 14.
9. Fränken, } Tagung der freien Vereinigung der Mikrobiologie, Berlin
10. Bernhardt, } 1912, cit. nach Kretschmer.
11. Preisich, Berliner klin. Wochenschr. 1912, Nr. 16.
12. Nicoll u. Williams, Archiv of pediatrics. 1912. Nr. 5 u. 6. } cit. nach
13. Nicoll. } Kretschmer.
14. Kolmer, American Journal of diseases of children July 1912 }
15. Belak, Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 52.
16. Schippers u. de Lange, Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 12.
17. Meyer, Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 11.
18. Bongartz, Berl. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 45.
19. Bongartz, Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 12.
20. Kämmerer, Archiv f. klin. Medizin, Bd. 99. 1910.
21. Pröscher, Folia hämatologica, Bd. 7, 1909.
22. Rapin, Progrès medical, 1901.
23. Wright, cf. Baumgarten, Handbuch der path. Mikroorganismen.

Lebenslauf.

Ich, Franz Eduard Johann Ferdinand Kolb bin am 17. Oktober 1888 zu Wiesbaden als Sohn des Kaufmanns Adolf Kolb geboren. Nachdem ich in Ems 3 Jahre die Realschule besucht hatte, ging ich 1901 auf das Kaiserin Augusta-Gymnasium in Koblenz über und legte dort 1907 das Abiturientenexamen ab. Die beiden ersten Studiensemester verbrachte ich dann in Leipzig, das dritte in Würzburg, die übrigen in München, wo ich im Herbst 1909 das Physikum und im Frühjahr 1912 das Staatsexamen bestand. Hier hörte ich unter anderen bei Bauer †, F. Müller, May, Angerer, Klaußner, Döderlein, Eversbusch †, Kräpelin, Pfaundler, Tappeiner, Borst, Frank, Gruber. Danach war ich mit den Versuchen zu vorliegender Arbeit beschäftigt und trat dann in das praktische Jahr ein, während dessen ich auf der chirurgischen und internen Abteilung des Evangelischen Diakonissenhauses Karlsruhe arbeitete.